エフェドリンおよびメタンフェタミンからの 突然変異原性ニトロソ化合物の生体内生成

The *in vivo* Formation of Mutagenic N-Nitroso Compounds from
Methamphetamine and Ephedrine

東京慈恵会医科大学公衆衛生学教室

清水 英 佑・竹 村 望

警視庁科学捜査研究所

安 藤 皓 章・森 田 真 理 子

東京慈恵会医科大学臨床検査医学教室

町 田 勝 彦

Hidesuke Shimizu and Nozomi Takemura

Department of Public Health, The Jikei University School of Medicine, Tokyo

Hiroaki Ando and Mariko Morita

Criminal Investigation Laboratory, Metropolitan Police Department, Tokyo

Katsuhiko Machida

Department of Laboratory Medicine, The Jikei University School of Medicine, Tokyo

The mutagenicity of N-nitrosomethamphetamine and N-nitrosoephedrine synthesized from methamphetamine and ephedrine in our laboratory was proved to be significant by the modified method of the Ames assay using *Salmonella typhimurium* TA100 and TA98 and *E. coli* WP2 uvrA/pKM in the presence of hamster S9.

The formation of N-nitrosomethamphetamine from methamphetamine and nitrite when incubated *in vitro* in the human urine or in human gastric juice was found. On the other hand, N-nitrosomethamphetamine was detected from the urine of methamphetamine addicts.

The identification of N-nitrosomethamphetamine was carried out by GC/MS.

Key words: Mutagenicity, *Salmonella typhimurium*, *E. coli*, N-nitrosomethamphetamine, N-nitrosoephedrine
突然変異原性, サルモネラ菌, 大腸菌, N-ニトロソメタンフェタミン,
N-ニトロソエフェドリン

緒 言

ヒトのガンの80~90%は, 日常生活環境中に存在する化学物質によるといわれる¹⁾。米国化学会の報告では²⁾,

Chemical Abstracts に登録されている化学物質の総数(1977年11月現在)は, 約400万あり, このうち我々の日常生活に用いられている物質は63,000物質(一般化学物質50,000, 医薬品6,000, 食品添加物・香料等5,500, 農

薬類1,500を含む)で、しかも毎週6,000物質ずつ増加しているという。国際癌研究機関(IARC)の報告では³⁾、ヒトに対して明らかにがん原性を示した物質、あるいは強く疑わせる物質は約26種類あり、その約65%は職業性のもので、32%は医薬品が占めている。しかし我々はこうした物質以外にも、大気汚染や水質汚濁、食品の焼けこげといった形で多くの有害物質の暴露を受けている。

一方、我々の日常生活の中で、単独では問題はないが、ある条件下で2物質が反応すると強力ながん原物質、あるいは突然変異原物質になる物質がある。例えば、食品中に存在する2級アミンや3級アミン類は、漬物や野菜に存在し、また食品添加物として用いられる亜硝酸と胃内酸性下で反応するとN-ニトロソ化合物を生成する⁴⁾。また医薬品の中にも同様に亜硝酸と反応してN-ニトロソ化合物が生成されることが報告されている⁵⁾。幅広い動物種にがん原性を示すN-ニトロソ化合物は、臓器特異性があるだけでなく、突然変異原性や経胎盤効果もあり、広く環境中に存在し、また容易に生成されることから注目されている物質である^{6,7)}。

我々は、2級アミンでありかつ医薬品として我国でも用いられているエフェドリンとメタンフェタミンのN-ニトロソ化合物を合成し、その突然変異原性および生体内での生成の可能性について検討した。

実験方法

1. N-nitroso 化合物の合成

覚せい剤である methamphetamine (1-phenyl-2-methyl-aminopropane) (MA と略)は、ephedrine (2-methylamino-1-phenyl-1-propanol) (EP と略)を原料として合成することができ、しかも両物質とも2級アミンであることから、我々は両者のニトロソ化合物を合成し、それぞれについて検討を行った。

1) N-nitrosomethamphetamine (NMA と略)の合成

1gの塩酸(+)methamphetamine (大日本製薬より購入)と1gの亜硝酸ナトリウムを12mlの20%酢酸水溶液中に溶解し、室温にて5分間攪拌する。反応後、chloroformにて抽出し、chloroform層を5%炭酸水素ナトリウム水溶液と5%食塩水でそれぞれ3回洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥後、減圧濃縮する。得られた淡黄色液体をさらに減圧下で蒸留・精製し0.94g(収率94%)、Bp 164-165°C/16-17 mmHg, $[\alpha]_D^{25} +118.1$ (C 1.80, CH₃OH)を得た。

元素分析値として、C: 66.74%, H: 7.93%, N: 15.89%。

Fig. 1 Electron impact mass spectrum of N-nitrosomethamphetamine.

C₁₀H₁₄N₂O としての計算値は、C: 67.39%, H: 7.92%, N: 15.72%であった。mass spectrum (70 eV): m/z 65, 91, m/z 87 [(C₉H₇N₂O)⁺, β-開裂]: m/z 118 [(C₉H₁₀)⁺, McLafferty 転位]: m/z 148(M-NO)⁺, m/z 178(M)⁺, H¹-NMR(ppm, CDCl₃): 1.36 (d, 3H, C-CH₃), 2.83 (s, 3H, N-CH₃), 2.93 (t, 2H, -CH₂-), 4.87 (m, 1H, CH), 7.15 (b, 5H, C₆H₅) (Fig. 1)

2) N-nitrosoephedrine (NEP と略)の合成

ephedrine (大日本製薬より購入)を原料として Wogan⁸⁾の方法に準じて合成を行い GC/MS, NMR, IR にて確認した。

2. 突然変異原性テスト

1) 用いた菌株: *Salmonella typhimurium* TA100 および TA98 (米国 California 大学 Bruce N. Ames 教授より分与された), *E. coli* WP2 uvrA/pKM (九州大学癌研・石沢 実博士より分与された)を用いた。

2) S9 の作成と S9 mix の調整⁹⁾

Sprague-Dawley ラット (雄・体重約 170 g 前後) および Syrian golden ハムスター (雄・体重約 130 g 前後) (日本生物材料センターより購入)に、それぞれ体重 1 kg 当り 500 mg の polychlorinated biphenyls (PCB, Kanechlor 500) を屠殺 5 日前に腹腔内に 1 回投与する。摘出した肝を homogenize 後、9,000 g, 10 分間遠心沈殿し、その上清 (S9 と称する)を得る。S9 に塩類および補酵素類を加えたものを S9 mix といい、次の組成で用いた。S9 mix 1 ml 当り: MgCl₂(8μmol), KCl(4μmol), G6P(5μmol), NADH (4μmol), NADPH (4μmol), Na-P 緩衝液 (100 μmol) および S9 を混合したもので、S9 量は最適濃度を得るため 100, 200, 300, 400 μl の各濃度について、ラットとハムスターを用いて検討した。

3) 突然変異原性テスト

Ames の原法⁹⁾を改変した preincubation 法¹⁰⁾ (37°C,

Table 1 Formation of N-nitrosomethamphetamine in the acetic buffer solution.

No	pH	Volume of Buffer (ml)	Methamphetamine HCl (mg)	Sodium nitrite (mg)	Yield (%)
1	3.11	10	100	400	15.6
2	2.63	10	100	400	74.4
3	2.23	10	100	400	81.8
4	1.95	10	100	200	98.4
5	1.36	50	100	400	98.7

Table 2 Formation of N-nitrosomethamphetamine in the human urine at different pH.

Group	pH	Methamphetamine HCl (mg)	Sodium nitrite (mg)	N-nitroso-methamphetamine mg (%)
Control	5.5	100	0	ND*
	5.5	500	0	0.02 (0.04)
Experimental group	5.23	100	400	5.1 (5.3)
	5.55	100	400	7.08 (7.4)
	5.70	100	400	4.00 (4.2)
	6.14	100	400	0.69 (0.7)
	6.15	100	4000	6.20 (6.5)

*ND:Not detected.

20 分間) にて行った。NMA, NEP 両物質は、それぞれ 5,000 $\mu\text{g}/\text{plate}$ を最高濃度に、dimethylsulfoxide (DMSO) を溶媒として 8 段階に希釈し、各濃度 2 枚ずつプレートを作成してテストした。判定は復帰変異コロニー数 (His⁺) が、対照群の 2 倍以上で、しかも量-反応関係を示した場合を陽性とした。

3. 尿および胃液中での NMA の検出

1) ヒトの尿中 (*in vitro*) での NMA の産生

(1) ヒト尿での NMA 回収率

健康な男性 (38 歳) の新鮮尿 160 ml に NMA 25 mg を添加し濃アンモニア水 10 ml を加える (pH 11.03)。次いでセルロース製透析膜に入れ約 10 時間、ethanol: chloroform 混合液 (4:1) 200 ml 中に放置する。透析後 chloroform 層を分離し、水層をさらに 2 回 chloroform にて抽出 (40 ml, 20 ml) する。chloroform 層を合した後、5% 食塩水にて 2 回洗浄し、無水硫酸ナトリウムで乾燥後減圧濃縮する。残留物を Gas chromatography により定量し、23.5~24.5 mg (回収率 94~98%) の NMA

を得た。

(2) 緩衝液中での NMA の産生実験

pH 1~3 付近の酢酸緩衝液 (Walpole の緩衝液) を調整し、Table 1 に示す条件下にて、37°C, 10 分間 incubation した時の NMA 産生率を検討した。

(3) ヒト尿中 (*in vitro*) での NMA 産生実験

pH の異なる (1) と同一人の尿 (約 150~170 ml) に Table 2 に示すような対照群と実験群を設け、(1) の方法を用いて NMA の産生量を検討した。

2) ヒト胃液 (*in vitro*) での NMA の産生

当大学病院にて胃の酸度を測定するため来院した女性 5 人 (30~40 歳) の新鮮な胃液 (pH 1.61) 25 ml について、塩酸 MA 10 mg のみ添加群および塩酸 MA 10 mg と亜硝酸ナトリウム 44 mg を添加した群とについて、尿の場合と同様の方法にて NMA 産生量を検討した。

3) 覚せい剤患者尿中からの NMA の検出

覚せい剤注射使用者 (男性, 49 歳) の尿約 200 ml に濃アンモニア水 10 ml を加えた後、(1) で述べた方法にて残

Table 3 Mutagenic activities of N-nitrosomethamphetamine and N-nitrosoephedrine in *S. typhimurium* TA100 and TA98.

N-nitroso compounds	$\mu\text{g}/\text{plate}$	His ⁺ revertant colonies/plate			
		TA100		TA98	
		- S 9	+ S 9	- S 9	+ S 9
N-nitrosomethamphetamine	5000	123	1863*	18	77*
	1000	152	3274	22	359
	500	143	2372	24	235
	100	140	682	23	55
	50	140	397	19	53
	10	152	193	20	24
N-nitrosoephedrine	5000	228	4083	42	149*
	1000	162	4113	33	149
	500	121	3184	34	106
	100	157	933	34	42
	50	130	499	28	42
	10	127	270	26	35
Control (DMSO)		141	211	26	26
		147	160	25	40

*Growth inhibition was observed.

留物を得た。これを薄層 chromatography (TLC) にて chloroform : methanol : ammonium (19 : 1 : 1) で展開し, Rf 値 0.6 付近に MA (塩酸塩として約 3 mg) を確認した後, Rf 値 0.7~0.8 付近 (NMA の Rf 値 0.74) をかき取り, ethylether にて抽出後, 減圧濃縮し, 微黄色のシロップを得た。これを酢酸エチル溶液として GC/MS にて測定した。

結 果

1. NMA および NEP の突然変異原性

合成した NMA および NEP は, ともに代謝活性化を与えた時にのみ突然変異原性を示した。しかし代謝活性化に用いた S9 は, ラットよりハムスターの方がより感受性高く検出できた。すなわち, NMA 100 $\mu\text{g}/0.1\text{ ml}$ および 500 $\mu\text{g}/0.1\text{ ml}$ の時, S9 量を変化させて検討したところ, S9 の最適量は S9 mix 1 ml 当たり 400 μl であることが明らかとなった (Fig. 2)。従って変異原性テストはすべて S9 量 400 $\mu\text{l}/1\text{ ml}$ S9 mix にて行った。その結果, Fig. 3 および Table 3 に示すように NMA は TA100 の菌株を用いた時, 復帰変異コロニー数 (His⁺) は著明に増加し, 1,000 $\mu\text{g}/\text{plate}$ の時最高値を示した。比変異原活性 (His⁺/mg) を求めると 5.0×10^3 であった。

Fig. 2 Effect of increased doses of S9 from the hamster or the rat liver on the mutagenic action of N-nitrosomethamphetamine.

一方 TA98 菌株では 4.0×10^2 であった。また *E. coli* では TA100 と同様に 6.6×10^3 と高い活性値 (実数値は表示せず) を示し, NMA が塩基置換型の菌株に強く反応する物質であることを示した。さらに NEP は, NMA 同様にハムスター S9 で TA100 菌株にて強い変異原性

Fig. 3 Dose-response curves of mutagenic activities of N-nitrosomethamphetamine and N-nitrosoephedrine with and without hamster S9 mix.

を示した(Fig. 3, Table 3)。比変異原活性値は 6.3×10^3 であった。しかし TA98 では 1.5×10^2 と NMA 同様に低値を示し NEP も塩基置換型の菌株に強く反応する変異原物質であることが明らかとなった。合成原料である MA および EP には、代謝活性化の有無にかかわらず変異原性を認めなかった。

2. *In vitro* ヒト尿中での NMA 産生

In vitro ヒト尿中での実験に先立ち、緩衝液中に MA および亜硝酸ナトリウムを加え一定時間インキュベーションした後に産生される NMA 量は、pH1.36~2.63の間では 98.4~74.4%と高い収率を示した。しかし pH3.11 では 15%と急に収率は減少していることから、両物質の反応は pH に強く影響されることが示唆された(Table 1)。一方ヒト尿に塩酸 MA および亜硝酸ナトリウム(NaNO_2)を添加した場合の NMA 産生を検討したところ、Table 2 に示すように pH5.23~6.15の間でも NMA の産生がみられた。しかし対照群として pH5.5 の時、亜硝酸が添加されない場合に検出されないか、高濃度の MA(500 mg) 存在下の場合、かろうじて 0.04%の NMA が検出される程度であった。

3. *In vitro* ヒト胃液中での NMA 産生について

ヒト胃液(pH1.61)25 ml に 10mg の MA のみ添加した場合 NMA の産生は認められなかった。しかし 10mg の MA および NaNO_2 44mg を添加した場合に、2.9mg (収率 30.2%) の NMA の産生が認められた。

4. 覚せい剤患者の尿中 NMA の検出

覚せい剤注射使用者の尿約 200 ml 中から GC/MS に

Fig. 4 N-nitrosomethamphetamine detected by GC/MS from the extract of the urine of methamphetamine addicts. Operating conditions: column, 2% OV-17, Gaschrom Q, 80-100 mesh, Glass column (3 m×3 mm i.d.); column temp., 190°C; injection port and separator temp., 220°C; carrier gas, He. 30 ml/min; ion source temp., 270°C; ionization voltage, 70 eV, ionization current, 60 μA.

て Fig. 4 に示すように、明らかな NMA に基因するシグナル(約数 μg)が検出された。

考 察

がん原性化学物質の多くは生体内に入ってから代謝活性化を受けてがん原性代謝物質になることが知られてい

る¹¹⁾。これを *in vitro* の実験系にとり入れてがん原性物質のスクリーニングに用いたのが Ames らにより開発された⁹⁾ *Salmonella typhimurium* を用いた変異原性テストである。現在一般的には代謝活性化にラット肝の homogenate を遠心沈殿させた上清(S9)を用いているが、ニトロソ化合物はむしろハムスターの肝から作成した S9 を用い^{12,13)}、preincubation 法¹⁰⁾を行った方が検出感度は上る。我々の実験でも NEP, NMA とともにラットよりハムスターの S9 の方が検出感度は高かった。

MA や EP に関する細胞毒性の報告は少なく、MA について石館ら¹⁴⁾が、chinese hamster cell を用いて chromosome aberration を検討し異常を認めていない。

Purchase ら¹⁵⁾は、がん原物質のスクリーニングとして 120 物質を 6 種類の短期試験法で検討しているが、その中に NEP も含まれている。その結果 4 種類の試験系 (mutation test of *Salmonella typhimurium*, mammalian cell transformation test *in vitro*, degranulation test of endoplasmic reticulum, sebaceous gland suppression test) で陽性を認めたが、tetrazolium reduction test と subcutaneous implantation test では陰性を示した。*S. typhimurium* の test では TA1538 と TA98 の 2 菌株で代謝活性化を与えた場合(+S9mix)に陽性を示したことから、NEP はフレームシフト型変異原物質であると報告している。

しかし我々の結果では、TA98 でも陽性を示したが、むしろ TA100 や *E. coli* などの塩基置換型の菌株で突然変異原性を強く検出できた。Purchase らの結果と我々の結果との違いは preincubation 法やハムスター S9 の使用によるものと思われる (Fig. 3, Table 3)。

一方 NEP のがん原性は Wogan ら⁸⁾が新生マウスの腹腔内投与で肝細胞がんを、また Eisenbrand ら¹⁶⁾がラットに経口投与して肝および肺に弱いながらも悪性腫瘍の発生を認めている。NMA についての発がん実験の報告はまだないが、我々の NEP の結果から化学構造の類似した NMA にもがん原性があるものとし予測している。

医薬品や食品中の 2 級アミンや 3 級アミンが亜硝酸と反応して生体内で N-ニトロソ化合物になることは、よく知られている⁴⁾。我々は前述の実験結果から、がん原性の疑われる NMA が生体内で産生されるかどうか検討した。予備試験から緩衝液中での NMA の産生は pH に依存性が高く、強酸性域で効率よく生成されることがわかった (Table 1)。またヒト胃液を用いた *in vitro* での実験から、亜硝酸存在下で NMA が産生されることを認めた。Table 4 は、ラットの胃および大腸を摘出し、胃の場合は噴門部と幽門部で結索、大腸は両端で結索し、胃内には 0.1M クエン酸緩衝液 (pH3.0) 3 ml を、大腸内には 0.2M リン酸緩衝液 (pH6.0) 3 ml を入れ、Table 4 に示す割合で MA および亜硝酸を加え 1 時間 37°C で振盪した後に産生される NMA を同定したが、胃内で高率に産生され、しかも亜硝酸量に依存することが明らかである。さらに pH 6.0 の大腸内でも産生されることが明らかとなった。しかし対照群に示した MA のみ又は亜硝酸のみでは胃内および大腸内のいずれにても NMA は全く検出されなかった。以上のことから NMA の産生は MA の存在下で、さらに亜硝酸の存在が必要でまた pH に影響されることが明らかとなった。

一方、覚せい剤患者の尿中からも GC/MS により

Table 4 Formation of N-nitrosomethamphetamine in the stomach and in the large intestine of rats with different concentrations of methamphetamine and sodium nitrite.

Group	Methamphetamine HCl mg/3ml	Sodium nitrite mg/2ml	N-nitrosomethamphetamine (mg) in	
			Stomach	Large intestine
Control group	0	0	ND*	ND
	0	100	ND	ND
	0	50	ND	ND
	0	10	ND	ND
	100	0	ND	ND
Experimental group	100	100	45	0.72
	100	50	13	0.36
	100	10	0.72	0.064

*ND:Not detected.

NMA の存在が確認された (Fig. 4)。

MA の生体内代謝に関してヒト、ラット、モルモットを用いた報告がある¹⁷⁾。それによるとヒトでは MA 投与 (0.29 mg/kg) 量の 23% が未変化物として尿中に排泄されるが、ラットでは 11%、モルモットではわずか 3% と動物種によって生体内代謝が異なることがわかる。覚せい剤患者の場合、投与量は明らかでないが、かなりの濃度の MA そのものが尿中に排泄されることが推定され、しかも唾液中に 16~25 mg の亜硝酸が存在し⁴⁾、またニトロソ化反応促進物質といわれる thiocyanate も唾液中に 33 μ g/ml 存在し、さらに喫煙者では 263 μ g/ml も増量しているといわれる⁴⁾ことから、覚せい剤中毒者の尿中に NMA が検出される可能性は当然考えられる。

EP は医薬品として気管支喘息、低血圧症、粘膜充血等の治療薬として、また散瞳剤として用いられる。さらに MA の原料としても用いられることから 10% 以上の濃度の製剤については覚せい剤取締法により覚せい剤原料として扱われる。一方 MA は睡眠覚醒、うつ病その他覚せい作用を期待する目的で、また外国では肥満の治療薬¹⁸⁾として用いられるが、我国では覚せい剤取締法により製造、所持、使用が厳しく制限されている。

昭和29年に覚せい剤取締法にもとづく検挙人員はピークを示したが、以後減少をたどり、昭和45年から再び上昇に転じ現在も年々増加の一途をたどっており第2の覚せい剤乱用期といわれる¹⁹⁾。しかも検挙者は、低年齢化を示すだけでなく家庭の主婦層にまで及んでいる。さらに MA の供給源はほとんどが密輸入によるもので、潜在的中毒者と乱用経験者を合わせると約60万人にのぼるといわれる¹⁹⁾。また MA の薬理作用から身体的依存性が強く、逆耐性現象を示し、覚せい剤中毒者の中には錯乱状態に陥り凶悪犯罪に走る者もあり、大きな社会問題となっている²⁰⁾。

今回の我々の実験結果から MA の投与により生体中で NMA が産生されること、および NMA に強い突然変異原性があることが示されたことから、MA の長期連用の危険性が示唆された。

結 語

メタンフェタミンおよびエフェドリンの N-ニトロソ化合物を合成し、その突然変異原性を検討した。さらにメタンフェタミンの N-ニトロソ化合物である N-ニトロソメタンフェタミンの産生について *in vitro* でのヒト尿、ヒト胃液中での産生、および覚せい剤中毒患者の尿中に検出されるかどうかについて検討して次の知見を得た。

1. N-ニトロソメタンフェタミンは、*Salmonella typhimurium* TA 100, TA 98 および *E. coli* WP 2 *uvrA/pKM* にて、代謝活性化を加えた場合に突然変異原性を示した。しかし変異原性の強さは TA 100 と *E. coli* で強く出現した。
2. N-ニトロソエフェドリンも同様に TA 100, TA 98 および *E. coli* で陽性であったが、TA 100 と *E. coli* でとくに強い陽性を示した。
3. 代謝活性化に用いた S9 は、ラット肝よりハムスター肝から得たものの方がより高い感度を示した。また S9 量は通常用いる量より多い 400 μ l/1 ml S9 mix に最適濃度を示した。
4. *In vitro* ヒト尿中におけるモデル実験で、pH 5~6 でも N-ニトロソメタンフェタミンが産生されることを知った。
5. ヒト胃液中における *in vitro* のモデル実験でも N-ニトロソメタンフェタミンが産生された。
6. 覚せい剤メタンフェタミン中毒患者の尿中からも N-ニトロソメタンフェタミンが検出された。

本論文の一部は第52回日本衛生学会において発表した。

文 献

- 1) Boyland, E.: A chemist's view of cancer prevention, Proc. R. Soc. Med., **60**, 93-99 (1967).
- 2) Maugh, T. H.: Chemicals: How many are there?, Science, **199**, 162 (1978).
- 3) Tomatis, L., Agthe, C., Bartsch, H., Huff, J., Montesano, R., Saracci, R., Walker, E. and Willbourn, J.: Evaluation of the carcinogenicity of chemicals: A review of the monograph program of the International Agency for Research on Cancer (1971 to 1977), Cancer Res., **38**, 877-885 (1978).
- 4) 谷村顕雄: 衛生化学領域における N-ニトロソ化合物, 衛生化学, **22**, 243-253 (1976).
- 5) Lijinsky, W. and Singer, G. M.: Formation of nitrosamines from tertiary amines and nitrous acid. In "N- nitroso compounds in the environment" (Editors: P. Bogovski and E. A. Walder), IARC Sci. Pub. Vol. 9, p. 111-113, Lyon (1973).
- 6) 小田嶋成和: N-ニトロソ化合物による発ガン研究の進歩, 食衛誌, **15**, 419-433 (1974).
- 7) Druckrey, H., Preussmann, R., Ivankovic, S.,

- Schmähel, D., Afkham, J., Blum, G., Mennel, H. D., Müller, M., Petropoulos, P. und Schneider, H.: Organotrope carcinogene Wirkungen bei 65 verschiedenen N-Nitroso-Verbindungen an BD-Ratten, *Z. Krebsforschung*, **69**, 103-201 (1967).
- 8) Wogan, G. N., Paglialunga, S., Archer, M. C. and Tannenbaum, S. R.: Carcinogenicity of nitrosation products of ephedrine, sarcosine, folic acid, and creatinine, *Cancer Res.*, **35**, 1981-1984 (1975).
- 9) Ames, B. N., McCann, J. and Yamasaki, E.: Methods for detecting carcinogens and mutagens with the Salmonella/ mammalian microsome mutagenicity test, *Mutat. Res.*, **31**, 347-364 (1975).
- 10) Yahagi, T., Nagao, M., Seino, Y., Matsushima, T., Sugimura, T. and Okada, M.: Mutagenicities of N-nitrosamines on Salmonella, *Mutat. Res.*, **48**, 121-130 (1977).
- 11) Miller, J. A. and Miller, E.C.: Perspectives on the Metabolism of chemical carcinogens, In "Environmental carcinogenesis, occurrence, risk evaluation and mechanisms" (Editors: P. Emmelot and E. Kriek) p. 25-50, Elsevier/North Holland, Amsterdam (1979).
- 12) Matsushima, T., Yahagi, T., Takamoto, Y., Nagao, M. and Sugimura, T.: Species difference in microsomal activation of mutagens and carcinogens, with special reference to new potent mutagens from pyrolysates of amino acids and proteins. In "Microsomes, drug oxidations, and chemical carcinogenesis, Vol. 2" (Editors: M. J. Coon et al.), p. 1093-1102, Academic Press, New York (1980).
- 13) Raineri, R., Poiley, J. A., Andrews, A. W., Pienta, R. J. and Lijinsky, W.: Greater effectiveness of hepatocyte and liver S 9 preparations from hamster than rat preparations in activity N-nitroso compounds to metabolites mutagenic to Salmonella, *J. Natl. Cancer Inst.*, **67**, 1117-1122 (1981).
- 14) 石館 基, 林 真, 沢田 稔, 松岡厚子, 吉川邦衛, 大野昌子, 中館正弘: 医薬品類の細胞毒性一培養細胞に対する染色体異常誘発性について, 衛生試験所報告, **96**, 55-61 (1978).
- 15) Purchase, I. F. H., Longstaff, E., Ashby, J., Styles, J. A., Anderson, D., Lefevre, P. A. and Westwood, F. R.: An evaluation of 6 short-term tests for detecting organic chemical carcinogens, *Br. J. Cancer*, **37**, 873-959 (1978).
- 16) Eisenbrand, G., Preussmann, R. and Schmehl, D.: Carcinogenicity of N-nitrosoephedrine in rats, *Cancer Letters*, **5**, 103-106 (1978).
- 17) Caldwell, J., Dring, L. G. and Williams, R. T.: Metabolism of [^{14}C]methamphetamine in man, the guinea pig and the rat, *Bioche. J.*, **129**, 11-22 (1972).
- 18) AMA drug evaluations: 4th edition, American Medical Association, John Wiley & Son, Inc., New York (1980).
- 19) 警察庁編: 警察白書(昭和55年版), p. 10~59, 大蔵省印刷局, 東京(1980).
- 20) 山下 格, 森田昭之助編: 覚醒剤中毒, 金剛出版, 東京(1980).

(受付 1983年12月16日)